

## TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BRVETS

## PCT

## RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

(article 18 et règles 43 et 44 du PCT)

Référence du dossier du déposant ou du mandataire <b>APL/B05B2958</b>	<b>POUR SUITE A DONNER</b> voir la notification de transmission du rapport de recherche internationale (formulaire PCT/ISA/220) et, le cas échéant, le point 5 ci-après	
Demande internationale n° <b>PCT/FR 98/ 02380</b>	Date du dépôt international(jour/mois/année) <b>06/11/1998</b>	(Date de priorité (la plus ancienne) (jour/mois/année) <b>06/11/1997</b>
Déposant <b>BIO MERIEUX et al.</b>		

Le présent rapport de recherche internationale, établi par l'administration chargée de la recherche internationale, est transmis au déposant conformément à l'article 18. Une copie en est transmise au Bureau international.

Ce rapport de recherche internationale comprend 4 feilles.

Il est aussi accompagné d'une copie de chaque document relatif à l'état de la technique qui y est cité.

1.  **Il a été estimé que certaines revendications ne pouvaient pas faire l'objet d'une recherche**(voir le cadre I).
2.  **Il y a absence d'unité de l'invention**(voir le cadre II).
3.  La demande internationale contient la divulgation **d'un listage de séquence de nucléotides ou d'acides aminés et la recherche internationale a été effectuée sur la base du listage de séquence**
  - déposé avec la demande internationale
  - fourni par le déposant séparément de la demande internationale
    - sans être accompagnée d'une déclaration selon laquelle il n'inclut pas d'éléments allant au-delà de la divulgation faite dans la demande internationale telle qu'elle a été déposée.
  - transcrit par l'administration
4. En ce qui concerne le titre,  le texte est approuvé tel qu'il a été remis par le déposant.  
 Le texte a été établi par l'administration et a la teneur suivante:  
**PROCEDE ET AGENT DE DETERMINATION D'UNE ACTIVITE ENZYMATIQUE DE TYPE DESAMINASE**

5. En ce qui concerne l'**abrégé**,
  - le texte est approuvé tel qu'il a été remis par le déposant
  - le texte (reproduit dans le cadre III) a été établi par l'administration conformément à la règle 38.2b). Le déposant peut présenter des observations à l'administration dans un délai d'un mois à compter de la date d'expédition du présent rapport de recherche internationale.

6. La figure **des dessins** à publier avec l'abrégé est la suivante:  
 Figure n° \_\_\_\_\_
  - suggérée par le déposant.
  - parce que le déposant n'a pas suggéré de figure.
  - parce que cette figure caractérise mieux l'invention.

Aucune des figures n'est à publier.

**RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE**

Demande Internationale No  
PCT/FR 98/02380

**A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE**  
CIB 6 C12Q1/04 C12Q1/34

C07C311/19 C07D233/54

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

**B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE**

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)  
CIB 6 C12Q C07C C07D

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si réalisable, termes de recherche utilisés)

**C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS**

Catégorie °	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	<p>GIAMMANCO G. &amp; PIGNATO S.: "Rapid identification of micro-organisms from urinary tract infections by beta-glucuronidase, phenylalanine deaminase, cytochrome oxidase and indole tests on isolation media."  <i>JOURNAL OF MEDICAL MICROBIOLOGY</i>, vol. 41, no. 6, décembre 1994, pages 389-392, XP002073584</p> <p>cité dans la demande  voir le document en entier</p> <p>---</p> <p style="text-align: center;">-/-</p>	1

Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents

Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

° Catégories spéciales de documents cités:

- "A" document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent
- "E" document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date
- "L" document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)
- "O" document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens
- "P" document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

"T" document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention

"X" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément

"Y" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier

"&" document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

8 février 1999

18/02/1999

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale  
Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Fonctionnaire autorisé

Griffith, G

1

## RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Recherche Internationale No  
PCT/FR 98/02380

## C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	MANAFI M. & ROTTER M. L.: "A new plate medium for rapid presumptive identification and differentiation of Enterobacteriaceae." INTERNATIONAL JOURNAL OF FOOD MICROBIOLOGY, vol. 14, no. 2, novembre 1991, pages 127-134, XP002073585 cité dans la demande voir le document en entier ---	1
X	CHEMICAL ABSTRACTS, vol. 78, no. 5, 5 février 1973 Columbus, Ohio, US; abstract no. 26194, PELOUX, Y. & LEFORT, H.: "Lysine deaminase of the Proteus - Providencia group by means of the Edwards and Fife lysine-iron medium. Practical value of this medium for differentiating enterobacteria." XP002073586 voir abrégé & FEUILL. BIOL., vol. 13, no. 68, 1972, pages 37-42, cité dans la demande ---	1
X	CHEMICAL ABSTRACTS, vol. 96, no. 19, 10 mai 1982 Columbus, Ohio, US; abstract no. 158923, SIVOLODSKII, E. P.: "Modification of a method for the determination of tryptophan deaminase and phenylalanine deaminase content in bacteria." XP002073587 voir abrégé & LAB. DELO, no. 3, 1982, pages 166-168, cité dans la demande ---	1
A	WO 92 00068 A (SMITHKLINE BEECHAM CORP) 9 janvier 1992 cité dans la demande voir exemples ---	7,8
A	US 5 643 743 A (CHANG GEORGE W ET AL) 1 juillet 1997 cité dans la demande voir colonne 17 - colonne 18 ---	1
A	US 5 411 867 A (CHANG GEORGE W ET AL) 2 mai 1995 cité dans la demande voir exemples ---	1

## RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande Internationale No  
PCT/FR 98/02380

C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A	US 4 603 108 A (BASCOMB SHOSHANA) 29 juillet 1986 voir le document en entier -----	1
A	US 5 541 082 A (BOCHNER BARRY) 30 juillet 1996 cité dans la demande voir le document en entier -----	1

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/FR 98/02380

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)		Publication date
WO 9200068	A	09-01-1992	AU	650890 B	07-07-1994
			AU	8105991 A	23-01-1992
			CA	2084776 A	29-12-1991
			EP	0536262 A	14-04-1993
			PT	98143 A	30-04-1992
			US	5565480 A	15-10-1996
			US	5444081 A	22-08-1995
-----					
US 5643743	A	01-07-1997	US	5411867 A	02-05-1995
			AT	143416 T	15-10-1996
			AU	657688 B	23-03-1995
			AU	8077191 A	10-12-1991
			CA	2027536 A,C	06-11-1990
			DE	69122385 D	31-10-1996
			DE	69122385 T	10-04-1997
			EP	0530322 A	10-03-1993
			FI	925169 A	13-11-1992
			JP	5508992 T	16-12-1993
			WO	9118111 A	28-11-1995
-----					
US 5411867	A	02-05-1995	US	5643743 A	01-07-1997
			AT	143416 T	15-10-1996
			AU	657688 B	23-03-1995
			AU	8077191 A	10-12-1991
			CA	2027536 A,C	06-11-1990
			DE	69122385 D	31-10-1996
			DE	69122385 T	10-04-1997
			EP	0530322 A	10-03-1993
			FI	925169 A	13-11-1992
			JP	5508992 T	16-12-1993
			WO	9118111 A	28-11-1991
-----					
US 4603108	A	29-07-1986	DK	556780 A,B,	30-12-1980
			EP	0018825 A	12-11-1980
			WO	8002433 A	13-11-1980
			GB	2048302 A,B	10-12-1980
			JP	3021160 B	22-03-1991
			JP	56500399 T	02-04-1981
-----					
US 5541082	A	30-07-1996	US	5464755 A	07-11-1995
			AU	2706295 A	29-11-1995
			BR	9507570 A	05-08-1997
			CA	2189031 A	09-11-1995
			CN	1152934 A	25-06-1997
			EP	0763099 A	19-03-1997
			JP	9512438 T	16-12-1997
			WO	9529984 A	09-11-1995

# TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS

PCT

## NOTIFICATION D'ELECTION (règle 61.2 du PCT)

Expéditeur: le BUREAU INTERNATIONAL

Destinataire:

United States Patent and Trademark  
Office  
(Box PCT)  
Crystal Plaza 2  
Washington, DC 20231  
ÉTATS-UNIS D'AMÉRIQUE

Date d'expédition  20 mai 1999 (20.05.99)	en sa qualité d'office élu
Demande internationale no:  PCT/FR98/02380	Référence du dossier du déposant ou du mandataire:  APL/B05B2958
Date du dépôt international:  06 novembre 1998 (06.11.98)	Date de priorité:  06 novembre 1997 (06.11.97)
Déposant:  ARMSTRONG, Lyle etc	

1. L'office désigné est avisé de son élection qui a été faite:

dans la demande d'examen préliminaire international présentée à l'administration chargée de l'examen préliminaire international le:

22 mars 1999 (22.03.99)

dans une déclaration visant une élection ultérieure déposée auprès du Bureau international le:

\_\_\_\_\_

2. L'élection  a été faite

n'a pas été faite

avant l'expiration d'un délai de 19 mois à compter de la date de priorité ou, lorsque la règle 32 s'applique, dans le délai visé à la règle 32.2b).

Bureau international de l'OMPI 34, chemin des Colombettes 1211 Genève 20, Suisse  no de télécopieur: (41-22) 740.14.35	Fonctionnaire autorisé:  J. Zahra  no de téléphone: (41-22) 338.83.38
--	---

**PCT****REQUEST**

The undersigned requests that the present international application be processed according to the Patent Cooperation Treaty.

International Application No.

International Filing Date

Name of receiving Office and "PCT International Application"

Applicant's or agent's file reference  
(if desired) (12 characters maximum)**Box No. I TITLE OF INVENTION**

METHOD AND AGENT FOR DETECTING AND IDENTIFYING AND/OR QUANTIFYING AN ENZYMATIC ACTIVITY SUCH AS DEAMINASE ACTIVITY

**Box No. II APPLICANT**

Lyle ARMSTRONG, Arthur JAMES and Sylvain ORENGA

Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this Box is the applicant's State (that is, country) of residence if no State of residence is indicated below.)

BIO MERIEUX  
Chemin de l'Orme  
69280 MARCY L'ETOILE  
FRANCE

 This person is also inventor.

Telephone No.

Facsimile No.

Teleprinter No.

State (that is, country) of nationality:

FRANCE

State (that is, country) of residence:

FRANCE

This person is applicant  all designated States  all designated States except the United States of America  the United States of America only  the States indicated in the Supplemental Box for the purposes of:

**Box No. III FURTHER APPLICANT(S) AND/OR (FURTHER) INVENTOR(S)**

Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this Box is the applicant's State (that is, country) of residence if no State of residence is indicated below.)

ARMSTRONG, Lyle  
18, Lindale Road  
Fenham  
NEWCASTLE UPON TYNE  
GRANDE-BRETAGNE

This person is:

 applicant only applicant and inventor inventor only (If this check-box is marked, do not fill in below.)State (that is, country) of nationality:  
GRANDE-BRETAGNEState (that is, country) of residence:  
GRANDE-BRETAGNE

This person is applicant  all designated States  all designated States except the United States of America  the United States of America only  the States indicated in the Supplemental Box for the purposes of:

 Further applicants and/or (further) inventors are indicated on a continuation sheet.**Box No. IV AGENT OR COMMON REPRESENTATIVE; OR ADDRESS FOR CORRESPONDENCE**

The person identified below is hereby/has been appointed to act on behalf of the applicant(s) before the competent International Authorities as:

 agent  common representative

CABINET GERMAIN & MAUREAU  
BP 6153  
69466 LYON CEDEX 06  
FRANCE

Telephone No.

04 72 69 84 30

Facsimile No.

04 72 69 84 31

Teleprinter No. 370 391 F

Address for correspondence: Mark this check-box where no agent or common representative is/has been appointed and the space above is used instead to indicate a special address to which correspondence should be sent.

## Continuation of Box No. III

## FURTHER APPLICANT(S) AND/OR (FURTHER) INVENTOR(S)

*If none of the following sub-boxes is used, this sheet should not be included in the request.*

Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this Box is the applicant's State (that is, country) of residence if no State of residence is indicated below.)

JAMES Arthur  
12, Wolseley Gardens  
JESMOND  
NE2 1 HR NEWCASTLE UPON TYNE  
GRANDE-BRETAGNE

This person is:

- applicant only  
 applicant and inventor  
 inventor only (If this check-box is marked, do not fill in below.)

State (that is, country) of nationality:  
GRANDE-BRETAGNE

State (that is, country) of residence:  
GRANDE-BRETAGNE

This person is applicant for the purposes of:  all designated States  all designated States except the United States of America  the United States of America only  the States indicated in the Supplemental Box

Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this Box is the applicant's State (that is, country) of residence if no State of residence is indicated below.)

ORENGA Sylvain  
164, Route du Suran  
01160 NEUVILLE/AIN  
FRANCE

This person is:

- applicant only  
 applicant and inventor  
 inventor only (If this check-box is marked, do not fill in below.)

State (that is, country) of nationality: FRANCE

State (that is, country) of residence: FRANCE

This person is applicant for the purposes of:  all designated States  all designated States except the United States of America  the United States of America only  the States indicated in the Supplemental Box

Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this Box is the applicant's State (that is, country) of residence if no State of residence is indicated below.)

This person is:

- applicant only  
 applicant and inventor  
 inventor only (If this check-box is marked, do not fill in below.)

State (that is, country) of nationality:

State (that is, country) of residence:

This person is applicant for the purposes of:  all designated States  all designated States except the United States of America  the United States of America only  the States indicated in the Supplemental Box

Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this Box is the applicant's State (that is, country) of residence if no State of residence is indicated below.)

This person is:

- applicant only  
 applicant and inventor  
 inventor only (If this check-box is marked, do not fill in below.)

State (that is, country) of nationality:

State (that is, country) of residence:

This person is applicant for the purposes of:  all designated States  all designated States except the United States of America  the United States of America only  the States indicated in the Supplemental Box

Further applicants and/or (further) inventors are indicated on another continuation sheet.

**Box No. V DESIGNATION OF STATES**

The following designations are hereby made under Rule 4.9(a) (*mark the applicable check-boxes; at least one must be marked*):  
**Regional Patent**

- AP ARIPO Patent:** GH Ghana, GM Gambia, KE Kenya, LS Lesotho, MW Malawi, SD Sudan, SL Sierra Leone, SZ Swaziland, TZ United Republic of Tanzania, UG Uganda, ZW Zimbabwe, and any other State which is a Contracting State of the Harare Protocol and of the PCT
- EA Eurasian Patent:** AM Armenia, AZ Azerbaijan, BY Belarus, KG Kyrgyzstan, KZ Kazakhstan, MD Republic of Moldova, RU Russian Federation, TJ Tajikistan, TM Turkmenistan, and any other State which is a Contracting State of the Eurasian Patent Convention and of the PCT
- EP European Patent:** AT Austria, BE Belgium, CH and LI Switzerland and Liechtenstein, CY Cyprus, DE Germany, DK Denmark, ES Spain, FI Finland, FR France, GB United Kingdom, GR Greece, IE Ireland, IT Italy, LU Luxembourg, MC Monaco, NL Netherlands, PT Portugal, SE Sweden, and any other State which is a Contracting State of the European Patent Convention and of the PCT
- OA OAPI Patent:** BF Burkina Faso, BJ Benin, CF Central African Republic, CG Congo, CI Côte d'Ivoire, CM Cameroon, GA Gabon, GN Guinea, GW Guinea-Bissau, ML Mali, MR Mauritania, NE Niger, SN Senegal, TD Chad, TG Togo, and any other State which is a member State of OAPI and a Contracting State of the PCT (*if other kind of protection or treatment desired, specify on dotted line*)

**National Patent (if other kind of protection or treatment desired, specify on dotted line):**

- |  |  |
|--|--|
| <input checked="" type="checkbox"/> AE United Arab Emirates.....                   | <input checked="" type="checkbox"/> LK Sri Lanka                                       |
| <input checked="" type="checkbox"/> AL Albania.....                                | <input checked="" type="checkbox"/> LR Liberia   |
| <input checked="" type="checkbox"/> DZ Algeria.....                                | <input checked="" type="checkbox"/> LS Lesotho.....                                    |
| <input checked="" type="checkbox"/> AG Antigua and Barbuda.....                    | <input checked="" type="checkbox"/> LT Lithuania                                       |
| <input checked="" type="checkbox"/> AM Armenia.....                                | <input checked="" type="checkbox"/> LU Luxembourg                                      |
| <input checked="" type="checkbox"/> AT Austria.....                                | <input checked="" type="checkbox"/> LV Latvia  |
| <input checked="" type="checkbox"/> AU Australia.....                              | <input checked="" type="checkbox"/> MA Morocco .....                                   |
| <input checked="" type="checkbox"/> AZ Azerbaijan.....                             | <input checked="" type="checkbox"/> MD Republic of Moldova.....                        |
| <input checked="" type="checkbox"/> BA Bosnia and Herzegovina.....                 | <input checked="" type="checkbox"/> MG Madagascar .....                                |
| <input checked="" type="checkbox"/> BB Barbados.....                               | <input checked="" type="checkbox"/> MK The former Yugoslav Republic of Macedonia ..... |
| <input checked="" type="checkbox"/> BG Bulgaria.....                               | <input checked="" type="checkbox"/> MN Mongolia  |
| <input checked="" type="checkbox"/> BR Brazil .....                                | <input checked="" type="checkbox"/> MW Malawi.....                                     |
| <input checked="" type="checkbox"/> BY Belarus.....                                | <input checked="" type="checkbox"/> MX Mexico .....                                    |
| <input checked="" type="checkbox"/> CA Canada.....                                 | <input checked="" type="checkbox"/> NO Norway .....                                    |
| <input checked="" type="checkbox"/> CH and LI Switzerland and Liechtenstein        | <input checked="" type="checkbox"/> NZ New Zealand .....                               |
| <input checked="" type="checkbox"/> CN China .....                                 | <input checked="" type="checkbox"/> PL Poland .....                                    |
| <input checked="" type="checkbox"/> CR Costa Rica .....                            | <input checked="" type="checkbox"/> PT Portugal .....                                  |
| <input checked="" type="checkbox"/> CU Cuba .....                                  | <input checked="" type="checkbox"/> RO Romania .....                                   |
| <input checked="" type="checkbox"/> CZ Czech Republic .....                        | <input checked="" type="checkbox"/> RU Russian Federation .....                        |
| <input checked="" type="checkbox"/> DE Germany .....                               | <input checked="" type="checkbox"/> SD Sudan .....                                     |
| <input checked="" type="checkbox"/> DK Denmark .....                               | <input checked="" type="checkbox"/> SE Sweden .....                                    |
| <input checked="" type="checkbox"/> DM Dominica .....                              | <input checked="" type="checkbox"/> SG Singapore .....                                 |
| <input checked="" type="checkbox"/> EE Estonia .....                               | <input checked="" type="checkbox"/> SI Slovenia .....                                  |
| <input checked="" type="checkbox"/> ES Spain .....                                 | <input checked="" type="checkbox"/> SK Slovakia .....                                  |
| <input checked="" type="checkbox"/> FI Finland .....                               | <input checked="" type="checkbox"/> SL Sierra Leone .....                              |
| <input checked="" type="checkbox"/> GB United Kingdom .....                        | <input checked="" type="checkbox"/> TJ Tajikistan .....                                |
| <input checked="" type="checkbox"/> GD Grenada .....                               | <input checked="" type="checkbox"/> TM Turkmenistan .....                              |
| <input checked="" type="checkbox"/> GE Georgia .....                               | <input checked="" type="checkbox"/> TR Turkey .....                                    |
| <input checked="" type="checkbox"/> GH Ghana .....                                 | <input checked="" type="checkbox"/> TT Trinidad and Tobago .....                       |
| <input checked="" type="checkbox"/> GM Gambia .....                                | <input checked="" type="checkbox"/> TZ United Republic of Tanzania .....               |
| <input checked="" type="checkbox"/> HR Croatia .....                               | <input checked="" type="checkbox"/> UA Ukraine .....                                   |
| <input checked="" type="checkbox"/> HU Hungary .....                               | <input checked="" type="checkbox"/> UG Uganda .....                                    |
| <input checked="" type="checkbox"/> ID Indonesia .....                             | <input checked="" type="checkbox"/> US United States of America .....                  |
| <input checked="" type="checkbox"/> IL Israel .....                                | <input checked="" type="checkbox"/> .....<br>.....                                     |
| <input checked="" type="checkbox"/> IN India .....                                 | <input checked="" type="checkbox"/> UZ Uzbekistan .....                                |
| <input checked="" type="checkbox"/> IS Iceland .....                               | <input checked="" type="checkbox"/> VN Viet Nam .....                                  |
| <input checked="" type="checkbox"/> JP Japan .....                                 | <input checked="" type="checkbox"/> YU Yugoslavia .....                                |
| <input checked="" type="checkbox"/> KE Kenya .....                                 | <input checked="" type="checkbox"/> ZA South Africa .....                              |
| <input checked="" type="checkbox"/> KG Kyrgyzstan .....                            | <input checked="" type="checkbox"/> ZW Zimbabwe .....                                  |
| <input checked="" type="checkbox"/> KP Democratic People's Republic of Korea ..... |  |
| <input checked="" type="checkbox"/> KR Republic of Korea .....                     |  |
| <input checked="" type="checkbox"/> KZ Kazakhstan .....                            |  |
| <input checked="" type="checkbox"/> LC Saint Lucia .....                           |  |

Check-boxes reserved for designating States which have become party to the PCT after issuance of this sheet:

- GD GRENADE
- 

**Precautionary Designation Statement:** In addition to the designations made above, the applicant also makes under Rule 4.9(b) all other designations which would be permitted under the PCT except the designation(s) indicated in the Supplemental Box as being excluded from the scope of this statement. The applicant declares that those additional designations are subject to confirmation and that any designation which is not confirmed before the expiration of 15 months from the priority date is to be regarded as withdrawn by the applicant at the expiration of that time limit. (*Confirmation (including fees) must reach the receiving Office within the 15-month time limit.*)

**Box No. VI PRIORITY CLAIM**

Further priority claims are indicated in the Supplemental Box.

Filing date of earlier application (day/month/year)	Number of earlier application	Where earlier application is:		
		national application: country	regional application:*	international application: receiving Office
item (1) 6 November 1997	97.14191	FRANCE		
item (2)				
item (3)				

The receiving Office is requested to prepare and transmit to the International Bureau a certified copy of the earlier application(s) (*only if the earlier application was filed with the Office which for the purposes of the present international application is the receiving Office*) identified above as item(s): (1)

\* Where the earlier application is an ARIPO application, it is mandatory to indicate in the Supplemental Box at least one country party to the Paris Convention for the Protection of Industrial Property for which that earlier application was filed (Rule 4.10(b)(ii)). See Supplemental Box.

**Box No. VII INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY**

**Choice of International Searching Authority (ISA)**  
(if two or more International Searching Authorities are competent to carry out the international search, indicate the Authority chosen; the two-letter code may be used):

ISA / EP

**Request to use results of earlier search: reference to that search (if an earlier search has been carried out by or requested from the International Searching Authority):**

Date (day/month/year)	Number	Country (or regional Office)
October 12, 1998	FA 550900	FRANCE

**Box No. VIII CHECK LIST; LANGUAGE OF FILING**

This international application contains the following number of sheets:

request	:04
description (excluding sequence listing part)	:23
claims	:03
abstract	:01
drawings	:
sequence listing part of description	:
Total number of sheets	:31

This international application is accompanied by the item(s) marked below:

1.  fee calculation sheet
2.  separate signed power of attorney
3.  copy of general power of attorney; reference number, if any:
4.  statement explaining lack of signature
5.  priority document(s) identified in Box No. VI as item(s):
6.  translation of international application into (language):
7.  separate indications concerning deposited microorganism or other biological material
8.  nucleotide and/or amino acid sequence listing in computer readable form
9.  other (specify): Payment Receipt, Official copy and 2 checks

Figure of the drawings which should accompany the abstract:

Language of filing of the international application: FRENCH

**Box No. IX SIGNATURE OF APPLICANT OR AGENT**

Next to each signature, indicate the name of the person signing and the capacity in which the person signs (if such capacity is not obvious from reading the request).

CABINET GERMAIN & MAUREAU  
Mireille DIDIER  
CPI 971202

Lyon/FRANCE, 1e 6 November 1998

For receiving Office use only

1. Date of actual receipt of the purported international application:
3. Corrected date of actual receipt due to later but timely received papers or drawings completing the purported international application:
4. Date of timely receipt of the required corrections under PCT Article 11(2):
5. International Searching Authority (if two or more are competent): ISA /
6.  Transmittal of search copy delayed until search fee is paid

2. Drawings:

received:

not received:

For International Bureau use only

Date of receipt of the record copy by the International Bureau:

## TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS

PCT

REC'D 29 FEB 2000  
WIPO PCT

## RAPPORT D'EXAMEN PRELIMINAIRE INTERNATIONAL

(article 36 et règle 70 du PCT)

Référence du dossier du déposant ou du mandataire <b>APL/B05B2958</b>	<b>POUR SUITE A DONNER</b> voir la notification de transmission du rapport d'examen préliminaire international (formulaire PCT/IPEA/416)	
Demande internationale n° <b>PCT/FR98/02380</b>	Date du dépôt international (jour/mois/année) <b>06/11/1998</b>	Date de priorité (jour/mois/année) <b>06/11/1997</b>
Classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois classification nationale et CIB <b>C12Q1/04</b>		
Déposant <b>BIO MERIEUX et al.</b>		
<p>1. Le présent rapport d'examen préliminaire international, établi par l'administration chargée de l'examen préliminaire international, est transmis au déposant conformément à l'article 36.</p> <p>2. Ce RAPPORT comprend 6 feuilles, y compris la présente feuille de couverture.</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> Il est accompagné d'ANNEXES, c'est-à-dire de feuilles de la description, des revendications ou des dessins qui ont été modifiées et qui servent de base au présent rapport ou de feuilles contenant des rectifications faites auprès de l'administration chargée de l'examen préliminaire international (voir la règle 70.16 et l'instruction 607 des Instructions administratives du PCT).</p> <p>Ces annexes comprennent 6 feuilles.</p>		
<p>3. Le présent rapport contient des indications relatives aux points suivants:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>I <input checked="" type="checkbox"/> Base du rapport</li> <li>II <input type="checkbox"/> Priorité</li> <li>III <input checked="" type="checkbox"/> Absence de formulation d'opinion quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle</li> <li>IV <input type="checkbox"/> Absence d'unité de l'invention</li> <li>V <input checked="" type="checkbox"/> Déclaration motivée selon l'article 35(2) quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle; citations et explications à l'appui de cette déclaration</li> <li>VI <input type="checkbox"/> Certains documents cités</li> <li>VII <input checked="" type="checkbox"/> Irrégularités dans la demande internationale</li> <li>VIII <input checked="" type="checkbox"/> Observations relatives à la demande internationale</li> </ul>		

Date de présentation de la demande d'examen préliminaire internationale <b>22/03/1999</b>	Date d'achèvement du présent rapport <b>23.02.00</b>
Nom et adresse postale de l'administration chargée de l'examen préliminaire international:  Office européen des brevets D-80298 Munich Tél. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d Fax: +49 89 2399 - 4465	Fonctionnaire autorisé <b>Maucher, C</b> N° de téléphone +49 89 2399 7415



## **RAPPORT D'EXAMEN PRELIMINAIRE INTERNATIONAL**

Demande internationale n° PCT/FR98/02380

## I. Bas du rapport

1. Ce rapport a été rédigé sur la base des éléments ci-après (*les feuilles de remplacement qui ont été remises à l'office récepteur en réponse à une invitation faite conformément à l'article 14 sont considérées, dans le présent rapport, comme "initiallement déposées" et ne sont pas jointes en annexe au rapport puisqu'elles ne contiennent pas de modifications.*) :

**Description, pages:**

2.4-7.9-23 version initiale

1,3,8 recue(s) avec télécopie du 08/02/2000

#### **Revendications, N°:**

- ## 2. Les modifications ont entraîné l'annulation :

- de la description,      pages :
  - des revendications,      n°s :
  - des dessins,      feuilles :

3.  Le présent rapport a été formulé abstraction faite (de certaines) des modifications, qui ont été considérées comme allant au-delà de l'exposé de l'invention tel qu'il a été déposé, comme il est indiqué ci-après (règle 70.2(c)) :

- #### 4. Observations complémentaires, le cas échéant :

### **III. Absence de formulation d'opinion quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle**

La question de savoir si l'objet de l'invention revendiquée semble être nouveau, impliquer une activité inventive (ne pas être évident) ou être susceptible d'application industrielle n'a pas été examinée pour ce qui concerne :

- les revendications n°s 1-10, 15 en ce qui concerne la nouveauté et l'activité inventive.

parce que :

**RAPPORT D'EXAMEN  
PRELIMINAIRE INTERNATIONAL**

Demande internationale n° PCT/FR98/02380

- la demande internationale, ou les revendications n°s en question, se rapportent à l'objet suivant, à l'égard duquel l'administration chargée de l'examen préliminaire international n'est pas tenue effectuer un examen préliminaire international (*préciser*) :
- la description, les revendications ou les dessins (*en indiquer les éléments ci-dessous*), ou les revendications n°s 1-10, 15 en question ne sont pas clairs, de sorte qu'il n'est pas possible de formuler une opinion valable (*préciser*) :  
**voir feuille séparée**
- les revendications, ou les revendications n°s en question, ne se fondent pas de façon adéquate sur la description, de sorte qu'il n'est pas possible de formuler une opinion valable.
- il n'a pas été établi de rapport de recherche internationale pour les revendications n°s en question.

**V. Déclaration motivée selon l'article 35(2) quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle; citations et explications à l'appui de cette déclaration**

**1. Déclaration**

Nouveauté	Oui : Revendications 11-14, 16-21 Non : Revendications
Activité inventive	Oui : Revendications 11-14, 16-21 Non : Revendications
Possibilité d'application industrielle	Oui : Revendications 1-21 Non : Revendications

**2. Citations et explications**

**voir feuille séparée**

**VII. Irrégularités dans la demande internationale**

Les irrégularités suivantes, concernant la forme ou le contenu de la demande internationale, ont été constatées :

**voir feuille séparée**

**VIII. Observations relatives à la demande internationale**

Les observations suivantes sont faites au sujet de la clarté des revendications, de la description et des dessins et de la question de savoir si les revendications se fondent entièrement sur la description :

**voir feuille séparée**

**Section III:**

L'objet des revendications 1-10 et 15 n'est pas clairement défini (article 6 PCT) (voir aussi section VIII) de telle sorte que ce n'est actuellement pas possible de juger la nouveauté et l'activité inventive (articles 33(2) et 33(3) PCT).

L'objet de ces revendications concerne la production, ainsi que l'utilisation d'un dérivé d'acide aminé cyclique et le dérivé lui-même (voir aussi section VIII 6.). Les groupements de ce dérivé sont définis par le résultat à atteindre (section VIII 1.) et par une définition fonctionnelle (voir section VIII 3.). Donc, l'objet est vague et équivoque ce qui introduit une ambiguïté quant à l'objet réel des revendications 1-10 et 15. Il n'est donc pas possible de comparer l'objet de ces revendications avec celui des documents D1-D6 cités ci-dessous.

**Section V:**

Il est fait référence aux documents suivants:

- D1: JOURNAL OF MEDICAL MICROBIOLOGY,  
vol. 41, no. 6, 1994, pages 389-392
- D2: INTERNATIONAL JOURNAL OF FOOD MICROBIOLOGY,  
vol. 14, no. 2, 1991, pages 127-134
- D3: CHEMICAL ABSTRACTS, vol. 78, no. 5, 5 février 1973 Columbus, Ohio, US;  
abstract no. 26194
- D4: CHEMICAL ABSTRACTS, vol. 96, no. 19, 10 mai 1982 Columbus, Ohio, US;  
abstract no. 158923
- D5: WO-A-92 00068
- D6: US-A-5 541 082

D1 détaille l'identification (titre) et détection rapide d'entérobactéries Protéus par exemple avec un test pour l'activité enzymatique de type désaminase (page 392, second paragraphe). L'échantillon à tester pour cette activité est ajouté au milieu d'isolation qui est supplémenté avec de la L-phénylalanine ou du L-tryptophane.

D2 décrit la détection, différentiation et énumération (première page, deuxième paragraphe) d'entérobactéries Protéus dans l'eau ou dans la nourriture (résumé) par exemple. Un milieu sélectif, qui comprend du L-tryptophane et des substrats chromogènes, a été développé (page 128, troisième et quatrième paragraphe). Ainsi, la tryptophane désaminase peut être détectée ce qui indique la présence du microorganisme (page 133, dernier paragraphe).

Dans D3 et D4 (résumés), le tryptophane et la phénylalanine désaminase sont détectés dans la bactérie Protéus.

D5 décrit des histidines avec 3 substitutions sur le cycle (résumé).

D6 divulgue la détection (colonne 7, ligne 54), l'identification (résumé) et l'énumération (colonne 8, ligne 5) de Protéus (e.g. colonne 58, deuxième paragraphe). L'échantillon est ajouté à un milieu de test. Ce milieu de test contient des substrats chromogènes (colonne 7, dernier paragraphe), du tryptophane et de la phénylalanine (colonne 58, ligne 9). Ainsi, la tryptophane désaminase et/ou la phénylalanine désaminase (colonne 9, quatrième paragraphe) sont détectées qui indiquent la présence de Protéus dans l'échantillon (colonne 16, quatrième paragraphe). Le milieu peut être supplémenté avec du sel citrate de bismuth ou un sel de tellurite (tableau 17; phrase reliant colonnes 57 et 58).

## 1. Nouveauté et activité inventive

- 1.1. L'objet des revendications 11-14 est nouveau et inventif (articles 33(2) et 33(3) PCT), car aucun des documents cités dans le rapport de recherche révèle des acides aminés correspondant aux présentes revendications, ni pris tout seuls, ni en combinaison quelconque.
- 1.2. De même, les revendications 16-20 satisfont aux conditions requises par le PCT en ce qui concerne la nouveauté et l'activité inventive (articles 33(2) et 33(3) PCT), dans la mesure où le composé utilisé à titre d'agent de détection est l'un des acides aminés de formule (I) tel que définis aux revendications 11-14 (voir aussi sections III et VIII).

**Section VII:**

L'abréviation "in" (e.g. page 13, ligne 31) n'est pas expliquée dans la description (voir page 8, ligne 10).

**Section VIII:**

Les revendications 1-10 et 15 ne satisfont pas aux conditions requises à l'article 6 PCT, dans la mesure où "X" et les "différents groupements" ne sont pas clairement définis. Les revendications tentent de définir ces objets par le résultat à atteindre, ce qui revient simplement à énoncer le problème fondamental que doit résoudre l'invention. En l'absence des caractéristiques techniques nécessaires pour parvenir à ce résultat et résoudre le problème, les groupements n'étant pas nommés explicitement (voir les exemples sur la page 8, ligne 34 à la page 9, ligne 2 du moment qu'ils limitent la diffusion de l' $\alpha$ -kéto acide produit par la désamination de l'acide aminé cyclique), il n'est pas possible de comparer l'objet des dites revendications avec celui des documents D1-D6.

**PROCEDE ET AGENT DE DETECTION ET D'IDENTIFICATION ET/OU  
QUANTIFICATION D'UNE ACTIVITE ENZYMATIQUE DE TYPE  
DESAMINASE**

La présente invention concerne un procédé de détection et  
5 d'identification et/ou quantification d'une activité enzymatique de type  
désaminase dans un milieu de culture pour micro-organismes, les composés et  
agents de détection adaptés à ce procédé, le procédé de préparation de ces  
composés et agents de détection, ainsi que les milieux de culture pour mettre  
en oeuvre ledit procédé.

10 La détection et l'identification des micro-organismes sont très  
importantes notamment en médecine, dans l'industrie agro-alimentaire, pour le  
contrôle de l'environnement (eau...). Les micro-organismes peuvent être  
recherchés pour leur pathogénicité, comme indicateurs de contamination, pour  
le suivi de procédés de fabrication et autre.

15 Les techniques de détection et d'identification des micro-organismes  
sont actuellement basées sur la recherche de séquences nucléotidiques  
caractéristiques, la recherche d'antigènes ou d'anticorps, la culture en milieu  
sélectif ou non, ou encore sur la recherche d'activités métaboliques et  
notamment enzymatiques (par exemple activités osidases, estérases,  
20 peptidases, oxydases, etc...).

Le plus souvent les procédés de détection et d'identification et/ou  
quantification des micro-organismes associent plusieurs de ces techniques. La  
culture est ainsi utilisée pour multiplier et sélectionner les micro-organismes  
recherchés. Afin de simplifier leur détection, il a été proposé de mettre en  
25 évidence des activités biochimiques en introduisant des molécules produisant  
une coloration ou une fluorescence, directement dans le milieu de culture. De  
tels milieux sont appelés milieux de détection. Les activités biochimiques  
peuvent être mises en évidence par diverses méthodes telles que :

-la modification physico-chimique du milieu : changement de pH  
30 en présence d'un indicateur coloré, ou fluorescent (méthyl-umbelliférone,...),

-le changement du potentiel rédox révélé à l'aide d'un indicateur  
coloré (sels de tétrazolium, ...) ou fluorescent (EP-A-0 424 293),

-l'hydrolyse de molécules libérant un composé coloré ou  
fluorescent (indoxyle, naphtol, coumarine...),

l'activité de trois acides-aminés (tryptophane, phénylalanine et lysine) pour la détection de la désaminase en association avec un sel de fer.

On connaît encore le document de SIVOLODSKII (" Modification of a method for the determination of tryptophan deaminase and phenylalanine deaminase content in bacteria ", LAB. DELO., N°3, 1982, pages 166-168) qui propose d'ajouter des hydrolysats enzymatiques de protéines, constitués de mélanges d'acides aminés naturels, de peptides et d'autres composés, pour détecter des activités tryptophane et phénylalanine désaminases.

On connaît encore la demande de brevet WO-A-92/00068, qui divulgue des composés histidine substitués agissant en tant qu'antagonistes des récepteurs de l'angiotensine II. Ces composés, selon la formule (I) et les exemples, comprennent entre autre la substitution du groupe amine ou carboxyle.

On connaît encore les brevets US-A-5,643,743 et US-A-5,411,867 qui divulguent le tryptophane pour la détection de la tryptophanase, enzyme différente des désaminases.

On connaît encore le brevet US-A-4,603,108 qui divulgue comme substrat pour détecter la phénylalanine désaminase, la D,L-béta-(p-nitrophényl)-alanine. La lecture de la réaction est effectuée soit à 480 nm, sans ajout de révélateur pour la phénylalanine désaminase, soit par dosage de l'ammoniac pour la leucine désaminase.

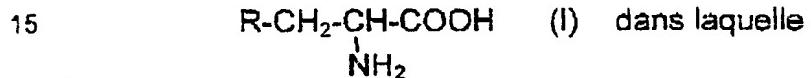
On connaît enfin le brevet US-A-5,541,082 qui divulgue, pour la détection des désaminases, les acides aminés phénylalanine et tryptophane, qui permettent d'obtenir une couleur orangée qui diffuse dans le milieu.

Soit ces documents divulguent l'utilisation d'acides aminés naturels, ce qui est incompatible avec une limitation de la diffusion de l'alpha-kéto acide. La seule solution proposée par certains de ces documents revient à limiter le temps d'incubation, ce qui est très préjudiciable à la qualité de la détection. Or la limitation de la diffusion est un gage de différentiation de plusieurs colonies microbiennes présentes dans un même milieu. Soit ces documents divulguent l'utilisation d'acides aminés artificiels et modifiés qui ne répondent pas à la formule (I) de l'invention, et qui peuvent, en plus, proposer une application différente, comme par exemple l'antagonisme avec les récepteurs de l'angiotensine II.

Malgré tous les tests biochimiques actuellement sur le marché, il s'avère qu'on ne dispose pas actuellement de moyens particulièrement bien

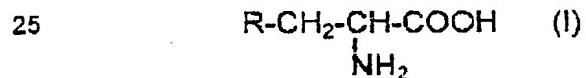
- R représente un radical d'acide-aminé cyclique, substitué par 1 à 3 groupements X, identiques ou différents,
  - X représente un groupement limitant la diffusion de l'α-kéto acide produit par la désamination de l'acide-aminé cyclique,
- 5 le composé de formule (I) pouvant être substitué par différents groupements n'interférant pas avec la fonction du groupement X,  
à l'exception des composés N-im-benzyl-L-histidine, 1 et 3-méthyl-L-histidine, O-benzyl-L-tyrosine, O-carboxybenzoyle-L-tyrosine, O-dansyl-L-tyrosine, O-méthyl-L-tyrosine et 1-, 4-, 5-, 6- et 7-méthyl-L-tryptophane.
- 10 Les abréviations « N-im » pour un composé de L-histidine, et « N-im » pour un composé de L-tryptophane, signifient que l'atome d'azote du noyau imidazole (His) ou de l'atome d'azote du noyau indole (Trp) est substitué.

Un troisième objet selon l'invention est un agent de détection comprenant au moins un composé de formule générale (I) suivante:



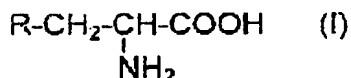
- R représente un radical d'acide-aminé cyclique, substitué par 1 à 3 groupements X, identiques ou différents,
  - X représente un groupement limitant la diffusion de l'α-kéto acide produit par la désamination de l'acide-aminé cyclique,
- 20 le composé de formule (I) pouvant être substitué par différents groupements n'interférant pas avec la fonction du groupement X.

Dans un mode de réalisation préférentiel, l'agent de détection comprend au moins un composé de formule générale (I) suivante:



dans laquelle R est substitué par un groupement X et X est choisi parmi les groupements hydrophobes.

- 30 Dans un mode de réalisation encore plus préféré, l'agent de détection comprend au moins un composé de formule générale (I) suivante:



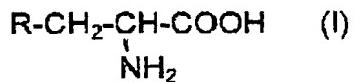
dans laquelle R est substitué par un groupement X et X est choisi parmi le méthyle, le benzyle, le carboxybenzoyle, le dansyl, le naphtalène-sulfonyle, le toluène-sulfonyle, le mésitylène-sulfonyle.

## REVENDICATIONS

1. Procédé de détection et d'identification et/ou quantification d'une activité enzymatique de type désaminase de micro-organisme, selon lequel on met en contact un inoculum susceptible de contenir un micro-organisme ayant  
5 une activité désaminase avec un milieu de culture pour micro-organismes,

caractérisé en ce que le milieu de culture comprend au moins un agent de détection permettant de mettre en évidence, par formation d'un produit coloré avec un agent révélateur, une activité enzymatique de type désaminase,

10 ledit agent de détection est un L-acide aminé de formule (I) générale suivante:



dans laquelle:

15 - R représente un radical d'acide-aminé cyclique, substitué par 1 à 3 groupements X, identiques ou différents,  
 - X représente un groupement limitant la diffusion de l' $\alpha$ -céto acide produit par la désamination de l'acide-aminé cyclique,  
 le composé de formule (I) pouvant être substitué par différents groupements  
20 n'interférant pas avec la fonction du groupement X.

2. Procédé selon la revendication 1, caractérisé en ce que R est en outre substitué par des groupes n'interférant pas avec le ou les groupements X.

3. Procédé selon la revendication 1, caractérisé en ce que l'agent révélateur est un sel de cation.

25 4. Procédé selon la revendication 1, caractérisé en ce que l'agent révélateur est ajouté au milieu de culture en même temps que l'agent de détection.

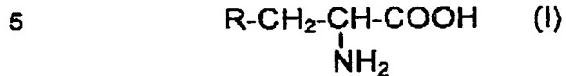
30 5. Procédé selon la revendication 1, caractérisé en ce que l'agent révélateur est ajouté au milieu de culture après la mise en culture des micro-organismes.

6. Procédé selon la revendication 1, caractérisé en ce que les micro-organismes détectés et identifiés et/ou quantifiés par l'activité enzymatique de type désaminase appartiennent au genre *Proteus*.

35 7. Procédé selon la revendication 1, caractérisé en ce qu'on ajoute également audit milieu de culture au moins un autre agent de détection permettant de mettre en évidence, par formation d'un produit coloré ou

fluorescent, une activité enzymatique différente de celle mise en évidence par le composé de formule générale (I).

**8. Composé ayant la formule générale (I) suivante:**



dans laquelle:

- R représente un radical d'acide-aminé cyclique, substitué par 1 à 3 groupements X, identiques ou différents,
- 10 - X représente un groupement limitant la diffusion de l'α-kéto acide produit par la désamination de l'acide-aminé cyclique,  
à l'exception des composés N-im-benzyl-L-histidine, 1 et 3-méthyl-L-histidine, O-benzyl-L-tyrosine, O-carboxybenzoyle-L-tyrosine, O-dansyl-L-tyrosine, O-méthyl-L-tyrosine et 1-, 4-, 5-, 6- et 7-méthyl-L-tryptophane.

15            9. Composé selon la revendication 8, caractérisé en ce que R est en outre substitué par des groupements n'interférant pas avec le ou les groupements X.

10. Composé selon la revendication 9, caractérisé en ce que R est substitué par un groupement X et X est choisi parmi les groupements hydrophobes.

20            11. Composé selon les revendications 9 et 10, caractérisé en ce que X est choisi parmi le naphtalène-sulfonyle, le tosyl-sulfonyle, le mésitylène-sulfonyle.

12. Composé selon la revendication 10, caractérisé en ce qu'il est le  
25 O-(2-naphtalène-sulfonyl)-tyrosine.

13. Composé selon la revendication 10, caractérisé en ce qu'il est le 4-O-toluène-sulfonyl-L-tyrosine.

14. Composé selon la revendication 10, caractérisé en ce qu'il est le N-toluène-sulfonyl-L-histidine.

30            15. Procédé de préparation des composés selon la revendication 8, comprenant les étapes suivantes:

- (a) - formylation du reste R,
- (b) - addition d'un sel de X sur le reste R formylé selon (a),
- (c) - déformylation du reste R substitué selon (b).

35            16. Milieu de culture de micro-organismes comprenant, outre les ingrédients nécessaires à la culture desdits micro-organismes, au moins un

composé selon l'une quelconque des revendications 8 à 14, à titre d'agent de détection.

17. Milieu de culture selon la revendication 16, caractérisé en ce que la concentration pondérale du ou des agents de détection est comprise entre 5 0,025 et 5 g/l de milieu de culture.

18. Milieu de culture selon les revendications 16 et 17, caractérisé en ce que concentration pondérale du ou des agents de détection est comprise entre 0,1 et 2 g/l, de préférence entre 0,3 et 0,6 g/l.

19. Milieu de culture selon la revendication 16, caractérisé en ce qu'il comprend également un agent révélateur, de préférence un sel de cation, par exemple du citrate de fer ammoniacal.

20. Milieu de culture selon la revendication 16, caractérisé en ce qu'il est sous forme gélosé.

21. Milieu de culture selon les revendications 16 à 20, caractérisé en ce qu'il comprend également au moins un autre agent de détection permettant de mettre en évidence, par formation d'un produit coloré ou fluorescent, une activité enzymatique différente de celle mise en évidence par le composé de formule générale (I).

09/530518

422 Rec'd PCT/PTO 02 MAY 2000

PATENT APPLICATION

IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

In re the Application of

Lyle ARMSTRONG, Arthur JAMES and Sylvain OENGA      Attn: PCT Branch

Application No. U.S. National Stage of PCT/FR98/02380

Filed: May 2, 2000      Docket No.: 106141

For: METHOD AND AGENT FOR DETECTING AND IDENTIFYING AND/OR QUANTIFYING AN ENZYMATICAL ACTIVITY SUCH AS DEAMINASE ACTIVITY

**TRANSLATION OF THE ANNEXES TO THE  
INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT**

Director of the U.S. Patent and Trademark Office  
Washington, D.C. 20231

Sir:

Attached hereto is a translation of the annexes to the International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/409). The attached translated materials replaces pages 1-4 and 9-11 and the claims.

Respectfully submitted,



William P. Berridge  
Registration No. 27,075

Joel S. Armstrong  
Registration No. 36,430

WPB:JSA/crt

Date: May 2, 2000

**OLIFF & BERRIDGE, PLC**  
**P.O. Box 19928**  
**Alexandria, Virginia 22320**  
**Telephone: (703) 836-6400**

DEPOSIT ACCOUNT USE  
AUTHORIZATION  
Please grant any extension  
necessary for entry;  
Charge any fee due to our  
Deposit Account No. 15-0461

09/530518  
Translation  
10010  
5650  
100

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

RECEIVED  
OCT 04 2000  
TECHNICAL INFORMATION 10/2900

(PCT Article 36 and Rule 70)

Applicant's or agent's file reference <b>APL/B05B2958</b>	<b>FOR FURTHER ACTION</b> See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)	
International application No. <b>PCT/FR98/02380</b>	International filing date ( <i>day/month/year</i> ) <b>06 November 1998 (06.11.98)</b>	Priority date ( <i>day/month/year</i> ) <b>06 November 1997 (06.11.97)</b>
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC <b>C12Q 1/04</b>		
Applicant <b>BIO MERIEUX</b>		

1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.

2. This REPORT consists of a total of 6 sheets, including this cover sheet.

This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT).

These annexes consist of a total of 6 sheets.

3. This report contains indications relating to the following items:

- I  Basis of the report
- II  Priority
- III  Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
- IV  Lack of unity of invention
- V  Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
- VI  Certain documents cited
- VII  Certain defects in the international application
- VIII  Certain observations on the international application

Date of submission of the demand <b>22 March 1999 (22.03.99)</b>	Date of completion of this report <b>23 February 2000 (23.02.2000)</b>
Name and mailing address of the IPEA/EP	Authorized officer
Facsimile No.	Telephone No.

## INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

PCT/FR98/02380

**I. Basis of the report**

1. This report has been drawn on the basis of (*Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to the report since they do not contain amendments.*):

- the international application as originally filed.
- the description, pages 2, 4-7, 9-23, as originally filed,  
pages \_\_\_\_\_, filed with the demand,  
pages 1, 3, 8, filed with the letter of 08 February 2000 (08.02.2000),  
pages \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_.
- the claims, Nos. \_\_\_\_\_, as originally filed,  
Nos. \_\_\_\_\_, as amended under Article 19,  
Nos. \_\_\_\_\_, filed with the demand,  
Nos. 1-21, filed with the letter of 08 February 2000 (08.02.2000),  
Nos. \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_.
- the drawings, sheets/fig \_\_\_\_\_, as originally filed,  
sheets/fig \_\_\_\_\_, filed with the demand,  
sheets/fig \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_,  
sheets/fig \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_.

2. The amendments have resulted in the cancellation of:

- the description, pages \_\_\_\_\_
- the claims, Nos. \_\_\_\_\_
- the drawings, sheets/fig \_\_\_\_\_

3.  This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).

4. Additional observations, if necessary:

**INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT**

International application No.

**PCT/FR98/02380****III. Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability**

The questions whether the claimed invention appears to be novel, to involve an inventive step (to be non obvious), or to be industrially applicable have not been examined in respect of:

- the entire international application.  
 claims Nos. 1-10, 15 in respect of the novelty and the inventive step

because:

- the said international application, or the said claims Nos. \_\_\_\_\_ relate to the following subject matter which does not require an international preliminary examination (*specify*):

- the description, claims or drawings (*indicate particular elements below*) or said claims Nos. 1-10, 15 are so unclear that no meaningful opinion could be formed (*specify*):

**See the Supplemental Box.**

- the claims, or said claims Nos. \_\_\_\_\_ are so inadequately supported by the description that no meaningful opinion could be formed.  
 no international search report has been established for said claims Nos. \_\_\_\_\_

**INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT**

International application No.

PCT/FR 98/02380

**Supplemental Box**

(To be used when the space in any of the preceding boxes is not sufficient)

Continuation of: III

The subject matter of Claims 1-10 and 15 is not clearly defined (PCT Article 6; see also Box VIII) such that it is not actually possible to assess novelty and inventive step (PCT Article 33(2) and 33(3)).

The subject matter of these claims concerns the production and the use of a derivative of a cyclic amino acid and the derivative itself (see also Box VIII, point 6). The groups of this derivative are defined by the result to be attained (Box VIII, point 1) and by a functional definition (see Box VIII, point 3.) Therefore the subject matter is vague and ambiguous and casts doubt as to the real subject matter of Claims 1-10 and 15. It is therefore not possible to compare the subject matter of these claims with that of documents D1-D6 cited below.

## INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.  
PCT/FR 98/02380

## V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

## 1. Statement

Novelty (N)	Claims	11-14, 16-21	YES
	Claims		NO
Inventive step (IS)	Claims	11-14, 16-21	YES
	Claims		NO
Industrial applicability (IA)	Claims	1-21	YES
	Claims		NO

## 2. Citations and explanations

## 1. Reference is made to the following documents:

D1: JOURNAL OF MEDICAL MICROBIOLOGY, Vol. 41,  
no. 6, 1994, pages 389-392

D2: INTERNATIONAL JOURNAL OF FOOD MICROBIOLOGY,  
Vol. 14, no. 2, 1991, pages 127-134

D3: CHEMICAL ABSTRACTS, Vol. 78, no. 5, 5 February  
1973 Columbus, Ohio, US; abstract no. 26194

D4: CHEMICAL ABSTRACTS, Vol. 96, no. 19, 10 May  
1982 Columbus, Ohio, US; abstract no. 158923

D5: WO-A-92 00068

D6: US-A-5 541 082

D1 describes the identification (titre) and rapid detection of *Proteus enterobacteria*, for example, via a test for deaminase enzyme activity (page 392, second paragraph). The sample to be tested for this activity is added to the isolation medium, which is supplemented with L-phenylalanine or L-tryptophane.

D2 describes the detection, differentiation and enumeration (first page, second paragraph) of *Proteus*

enterobacteria in water or in food (abstract) for example. A selective medium, comprising L-tryptophane and chromogen substrates has been developed (page 128, third and fourth paragraph). Thus, tryptophane deaminase can be detected, indicating the presence of the micro-organism (page 133, last paragraph).

In D3 and D4 (abstracts) the tryptophane and phenylalanin deaminase are detected in the Proteus bacterium.

D5 describes histadines with 3 substitutions on the ring (abstract).

D6 discloses the detection (column 7, line 54), identification (abstract) and enumeration (column 8, line 5) of Proteus (e.g. column 58, second paragraph). The sample is added to a test medium. This test medium contains chromogen substrates (column 7, last paragraph), tryptophane and phenylalanin (column 58, line 9). Thus, tryptophane and/or phenylalanin deaminase (column 9, fourth paragraph) are detected, indicating the presence of Proteus in the sample (column 16, fourth paragraph). The medium can be supplemented with citrated bismuth salt or a tellurite salt (Table 17; phrase between columns 57 and 58).

1. Novelty and inventive step

1.1 The subject matter of Claims 11-14 is novel and inventive (PCT Article 33(2) and 33(3)) as none of the documents cited in the International Search Report, either taken alone or in any combination, discloses amino acids corresponding to the present claims.

1.2 Similarly, Claims 16-20 fulfil the requirements of the PCT concerning novelty and inventive step (PCT

**INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT**

International application No.

PCT/FR 98/02380

Article 33(2) and 33(3)) since the compound used as a detection agent is one of the amino acids of formula (I) as defined in Claims 11-14 (see also Box III and Box VIII).

**INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT**International application No.  
PCT/FR 98/02380**VII. Certain defects in the international application**

The following defects in the form or contents of the international application have been noted:

The abbreviation "in" (e.g. page 13, line 31) is not explained in the description (see page 8, line 10).

**VIII. Certain observations on the international application**

The following observations on the clarity of the claims, description, and drawings or on the question whether the claims are fully supported by the description, are made:

Claims 1-10 and 15 do not fulfil the requirements of PCT Article 6 in that "X" and the "different groups" are not clearly defined.

The claims attempt to define these subjects by the result to be achieved, which simply amounts to describing the basic problem that the invention is to solve. In the absence of the technical features required to arrive at this result and solve the problem, as the groups have not been explicitly named (see examples, page 8, line 34, to page 9, line 2, having regard to the fact that they limit the diffusion of the  $\alpha$ -keto acid produced by the deamination of the cyclic amino acid), it is not possible to compare the subject matter of said claims with that of documents D1-D6.

09/530518

- 1 - 422 Rec'd PCT/PTO 02 MAY 2000

METHOD AND AGENT FOR DETECTING AND IDENTIFYING AND/OR QUANTIFYING AN ENZYMATIC ACTIVITY SUCH AS DEAMINASE ACTIVITY

5       The present invention relates to a method for detecting and identifying and/or quantifying an enzymatic activity such as deaminase activity in a culture medium for microorganisms, to the compounds and detection agents which are suitable for this method, to  
10      the method for preparing these compounds and detection agents, as well as to the culture media for implementing said method.

15      The detection and identification of microorganisms are very important in particular in medicine, in the agrifoods industry or for environmental control (water, etc.). Microorganisms may be sought for their pathogenicity, as contamination indicators, for monitoring manufacturing methods, and the like.

20      The techniques for detecting and identifying microorganisms are currently based on the search for characteristic nucleotide sequences, the search for antigens or antibodies, culturing in selective or nonselective medium or alternatively the search for  
25      metabolic and in particular enzymatic activities (for example osidase, esterase, peptidase, oxidase, etc. activities).

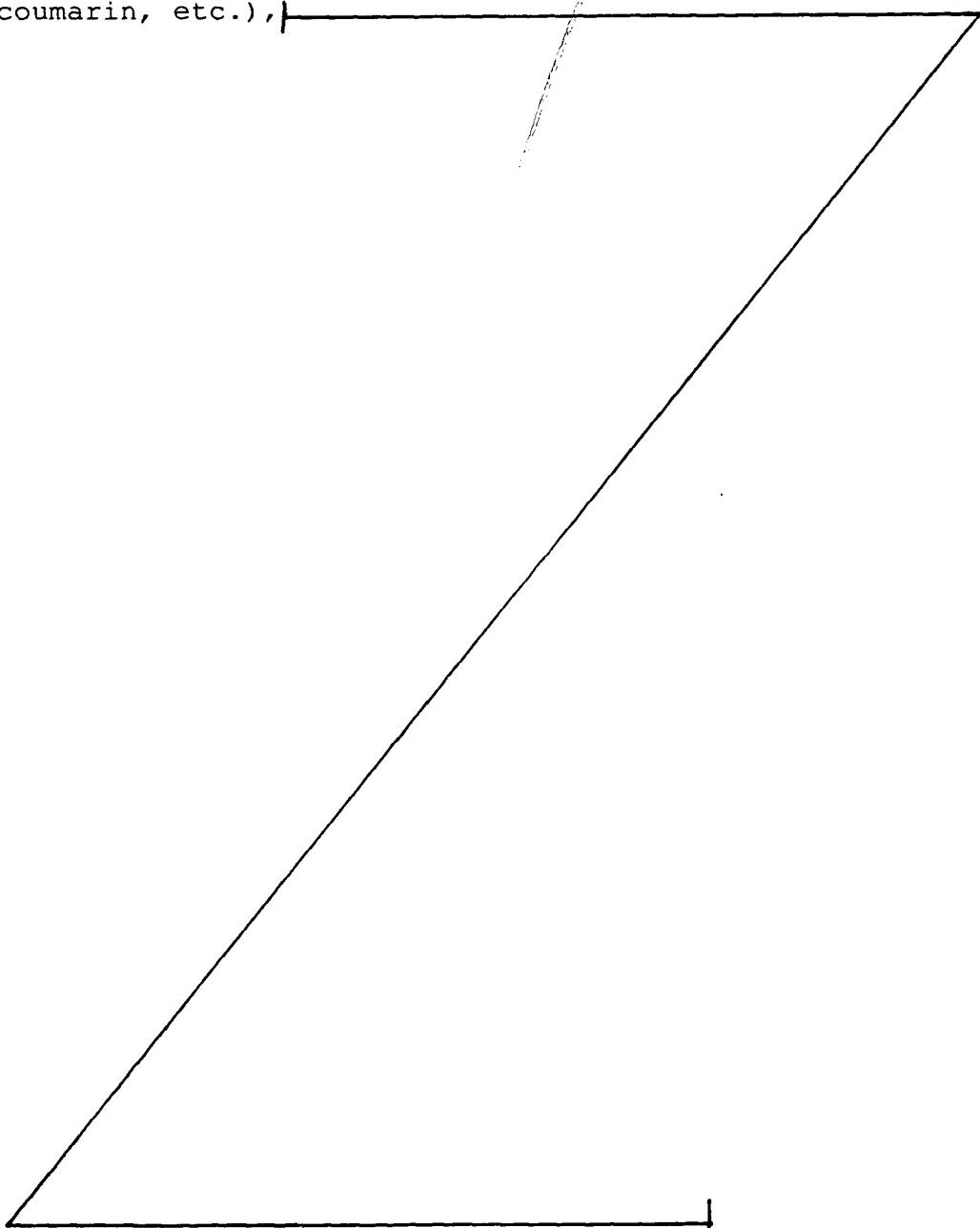
30      Usually, the methods for detecting and identifying and/or quantifying microorganisms combine several of these techniques. Culturing is thus used to multiply and select the desired microorganisms. In order to simplify their detection, it has been proposed to demonstrate biochemical activities by introducing molecules which produce a coloration or a fluorescence,  
35      directly into the culture medium. Such media are referred to as detection media. The biochemical activities can be demonstrated by various methods, such as:

AMENDED PAGE

- physicochemical modification of the medium:  
change in pH in the presence of / a colored or  
fluorescent indicator (methylumbelliferone, etc.),

5 - change in the redox potential, revealed with  
the aid of a colored indicator (tetrazolium salts,  
etc.) or a fluorescent indicator (EP-A-0 424 293),

- hydrolysis of molecules which release a colored  
compound or a fluorescent compound (indoxyl, naphthol,  
coumarin, etc.).



5

10

15

20

of three amino acids (tryptophan, phenylalanine and lysine), for detecting deaminase, in combination with an iron salt.

25

The document by SIVOLODSKII ("Modification of a method for the determination of tryptophan deaminase and phenylalanine deaminase content in bacteria", LAB. DELO., No. 3, 1982, pages 166-168) is also known, which proposes adding enzymatic hydrolysates of proteins, consisting of mixtures of natural amino acids, of peptides and of other compounds, in order to detect 30 tryptophan and phenylalanine deaminase activities.

35

Patent application WO-A-92/00068 is also known, which discloses substituted histidine compounds which act as antagonists of angiotensin II receptors. These compounds, according to the formula (I) and the examples, comprise, inter alia, the substitution of the amine or carboxyl group.

Patents US-A-5,643,743 and US-A-5,411,867 are also known, which disclose tryptophan for detecting

tryptophanase, this enzyme being different from the deaminases.

Patent US-A-4,603,108 is also known, which discloses D,L-beta-(p-nitrophenyl)alanine as a substrate for detecting phenylalanine deaminase. The reading of the reaction is carried out either at 480 nm, without adding a revelator, for phenylalanine deaminase, or by assaying ammonia for leucine deaminase.

Finally, Patent US-A-5,541,082 is known, which discloses, for detecting deaminases, the amino acids phenylalanine and tryptophan, which make it possible to obtain an orangey color which diffuses in the medium.

Either these documents disclose the use of natural amino acids, which is incompatible with a limitation of the diffusion of alpha-keto acid. The only solution proposed by certain of these documents comes down to limiting the incubation time, which is very prejudicial to the quality of the detection. However, the limitation of diffusion is evidence of differentiation of several microbial colonies present in the same medium. On these documents disclose the use of artificial and modified amino acids which do not satisfy formula (I) of the invention, and which can, in addition, provide a different application, such as for example antagonism with angiotensin II receptors.

Despite all the biochemical assays currently on the market, it turns out that currently there are no means available, which are particularly well-

5

10

15

20

25

30

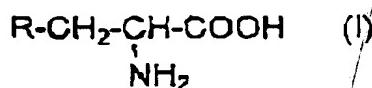
- R represents a cyclic amino acid radical,  
35 substituted with 1 to 3 groups X, which are identical  
or different,

**CLAIMS**

1. Method for detecting and identifying and/or quantifying an enzymatic activity such as deaminase 5 activity of a microorganism, according to which an inoculum which is capable of containing a microorganism with a deaminase activity is brought into contact with a culture medium for microorganisms,

characterized in that the culture medium 10 comprises at least one detection agent for demonstrating, by forming a colored product with a revealing agent, an enzymatic activity such as deaminase activity;

said detection agent is an L-amino acid of 15 following general formula (I):



in which:

20 - R represents a cyclic amino acid radical, substituted with 1 to 3 groups X, which are identical or different,

- X represents a group which limits the diffusion of the  $\alpha$ -keto acid produced by the deamination of the 25 cyclic amino acid,

the compound of formula (I) being able to be substituted with various groups which do not interfere with the function of the group X.

2. Method according to claim 1, characterized in 30 that R is also substituted with groups which do not interfere with the group(s) X.

3. Method according to claim 1, characterized in that the revealing agent is a cation salt.

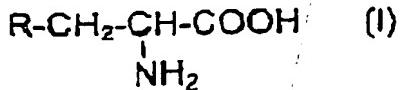
4. Method according to claim 1, characterized in 35 that the revealing agent is added to the culture medium at the same time as the detection agent.

5. Method according to claim 1, characterized in  
that the revealing agent is added to the culture medium  
after culturing the microorganisms.

5 6. Method according to claim 1, characterized in  
that the microorganisms which are detected and  
identified and/or quantified by enzymatic activity such  
as deaminase activity belong to the group *Proteus*.

10 7. Method according to claim 1, characterized in  
that at least one other detection agent for  
demonstrating, by forming a colored or fluorescent  
product, an enzymatic activity which is different from  
that demonstrated by the compound of general formula  
(I) is also added to said culture medium.

15 8. Compound having the following general formula  
(I):



in which:

20 - R represents a cyclic amino acid radical,  
substituted with 1 to 3 groups X, which are identical  
or different,  
- X represents a group which limits the diffusion of  
the  $\alpha$ -keto acid produced by the deamination of the  
25 cyclic amino acid,  
with the exception of the compounds N-im-benzyl-L-  
histidine, 1- and 3-methyl-L-histidine, O-benzyl-L-  
tyrosine, O-carboxybenzoyl-L-tyrosine, O-dansyl-L-  
tyrosine, O-methyl-L-tyrosine and 1-, 4-, 5-, 6- and  
30 7-methyl-L-tryptophan.

9. Compound according to claim 8, characterized in  
that R is also substituted with groups which do not  
interfere with the group(s) X.

35 10. Compound according to claim 9, characterized in  
that R is substituted with a group X, and X is chosen  
from hydrophobic groups.

11. Compound according to claims 9 and 10, characterized in that X is chosen from naphthalene-sulfonyl, tosyl-sulfonyl and mesitylene-sulfonyl.
12. Compound according to claim 10, characterized in that it is O-(2-naphthalene-sulfonyl)-tyrosine.
13. Compound according to claim 10, characterized in that it is 4-O-toluene-sulfonyl-L-tyrosine.
14. Compound according to claim 10, characterized in that it is N-toluene-sulfonyl-L-histidine.
- 10 15. Method for preparing the compounds according to claim 8, comprising the following steps:
  - (a) - formylation of the residue R,
  - (b) - addition of a salt of X onto the residue R formylated according to (a),
  - 15 (c) - deformylation of the residue R substituted according to (b).
16. Culture medium for microorganisms, comprising, besides the ingredients required for culturing said microorganisms, at least one compound according to any 20 one of claims 8 to 14, as a detection agent.
17. Culture medium according to claim 16, characterized in that the weight concentration of the detection agent(s) is between 0.025 and 5 g/l of culture medium.
- 25 18. Culture medium according to claims 16 and 17, characterized in that [lacuna] weight concentration of the detection agent(s) is between 0.1 and 2 g/l, preferably between 0.3 and 0.6 g/l.
19. Culture medium according to claim 16,  
30 characterized in that it also comprises a revealing agent, preferably a cation salt, for example ammoniacal iron citrate.
20. Culture medium according to claim 16, characterized in that it is in a gelled form.
- 35 21. Culture medium according to claims 16 to 20, characterized in that it also comprises at least one other detection agent for demonstrating, by forming a colored or fluorescent product, an enzymatic activity

which is different from that demonstrated by the compound of general formula (I).